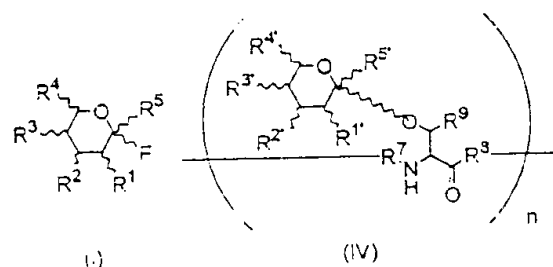




| | | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| (51) 国際特許分類6 C07K 9/00 | A1 | (11) 国際公開番号 WO00/09546 (43) 国際公開日 2000年2月24日(24.02.00) |
| (21) 国際出願番号 PCT/JP99/04262 (22) 国際出願日 1999年3月6日(06.08.99) (30) 優先権データ 特願平10/225897 1998年8月10日(10.08.98) JP (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 北海道電力株式会社(HOKKAIDO ELECTRIC POWER COMPANY, INCORPORATED)[JP/JP] 〒060-8677 北海道札幌市中央区大通東1丁目2番地 Hokkaido, (JP) (71) 出願人: および (72) 発明者 西村紳一郎(NISHIMURA, Shin-ichiro)[JP/JP] 〒060-0009 北海道札幌市中央区北9条西16丁目1-1-302 Hokkaido, (JP) (74) 代理人 青山 茂, 外(AOYAMA, Tamotsu et al.) 〒540-0001 大阪府大阪市中央区城見1丁目3番7号 IMPビル 青山特許事務所 Osaka, (JP) | | (81) 指定国 US, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE) 添付公開書類 国際調査報告書 |
| (54) Title: PROCESS FOR THE PREPARATION OF REGULAR GLYCOPEPTIDES (54) 発明の名称 規則性糖ペプチド類の製造法 <div style="text-align: center;"> <p>(I) (IV)</p> </div> (57) Abstract A process for easily preparing regular glycopeptides useful as materials of scientific studies, medical care, food and so on, which comprises coupling a fluorinated glycoside of a mono- or oligo-saccharide as represented by general formula (I) with an amino acid or a peptide, deblocking the obtained product through hydrogenation to thereby obtain a glycopeptide, and subjecting this glycopeptide to condensation polymerization to thereby obtain a regular glycopeptide represented by general formula (IV). | | |

(57)要約

科学研究、医療、食品面等の材料として有用な糖ペプチド類を容易に製造する方法を提供する。一般式(I)で示される単糖またはオリゴ糖のフッ素化グリコシドをアミノ酸またはペプチド類とカップリングさせたのち、水素添加して脱保護して糖ペプチドを得る。その糖ペプチドを縮重合することにより一般式(IV)の規則性糖ペプチド類を得る。



PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE アラブ首長国連邦
AL アルバニア
AM アーメニア
AT オーストリア
AU オーストラリア
AZ アゼルバイジャン
BA ボスニア・ヘルツェゴビナ
BB バリバ
BE ベルギー
BF ブルキナファソ
BG ブルガリア
BH バレー
BJ ベネズエラ
BR ブラジル
CA カナダ
CF コンゴ
CG コンゴ
CH スイス
CI コートジボワール
CM カメルーン
CN 中国
CR コスタリカ
CY キプロス
CZ チェコ
DE ドイツ

DM ドミニカ
EE エストニア
EG エジプト
FI フィンランド
FR フランス
GB 英国
GD グレナダ
GE ジョージア
GH ガナ
GM ギニア
GN ギニアビサウ
GR ギリシャ
HR クロアチア
HU ハンガリー
ID インドネシア
IE アイルランド
IL イスラエル
IN インド
IS アイスランド
IT イタリア
JP 日本
KE ケニア
KG キルギスタン
KP 北朝鮮
KR 韓国

KZ カザフスタン
LC セントルシア
LI リヒテンシュタイン
LK スリランカ
LR リベリア
LS レソト
LT リトアニア
LU ルクセンブルグ
LV ラトヴィア
MA モロッコ
MC モナコ
MD モルドバ
MG マダガスカル
MH マルディブ
ML マリ
MN モンゴル
MR モリタニア
MW マラウイ
MX メキシコ
NE ニジェール
NL オランダ
NO ノルウェー
NZ ニュージーランド
PL ポーランド
PT ポルトガル
RO ルーマニア

RU ロシア
SE スウェーデン
SG シンガポール
SI スロベニア
SK スロバキア
SN セネガル
SR スリナム
SD スーダン
TG トーゴ
TH タイ
TM トルキメ
TN チュニジア
TR トルコ
TT トリニダード・トバゴ
UA ウクライナ
UG ウガンダ
US アメリカ合衆国
UZ ウズベキスタン
VN ベトナム
YU ユーゴスラビア
ZA 南アフリカ共和国
ZW ジンバブエ

明 細 書

規則性糖ペプチド類の製造法

5

技術分野

本発明は科学研究・医療・食品面等で応用が期待される糖ペプチドを容易に製造する方法、並びにその重合体の製造法に関する。詳しくは、立体選択的な糖ペプチドモノマー、その縮重合体である規則性糖ペプチドの新規な製造方法に関する。

10

背景技術

近年、生体内における糖鎖の役割について非常に多くの知見が得られ、糖鎖生物学、糖鎖工学といった研究分野が医療・食品分野等に幅広く応用されている。特に複合糖質の中でも糖鎖がタンパク質に結合している糖タンパク質・糖ペプチドは生体内で細胞認識、分化、受精、老化、がん化などに深く関与することが近年知られてきている。このような現状により、天然の構造を有する糖鎖や新規な糖鎖を合成する試みが盛んになされている。しかし糖鎖は複数個の分岐点があるばかりでなく、その構成単位である単糖の結合様式も多様であるため、高度に構造が制御された糖鎖類あるいは糖ペプチド類の試料を得ることは極めて困難であった。

20

従来のように糖ペプチドを合成するに当たってアシル系の保護基を持つアッ素化クリコシドをグリコシドドナーとしペプチドとカップリングを行う(津田ら、Chem. Comm. 2279 (1996))と糖鎖の脱離反応やペプチドのラセミ化反応を誘発する恐れがある。

25

またこれまで報告されている糖ペプチドの合成例はすべてアミノ酸を逐次的に伸長させる逐次合成法によって行われてきた。例えば、ペプチドを固相に固定化しペプチドを伸長させる方法(中原ら、Carbohydr. Res., 292, 71-81 (1996))あるいは液相中でペプチドを伸長させる方法(クンツら、Ang. Chem. Int. Ed. Engl., 36, 618-621 (1997))などが挙げられる。しかし逐次合成の最大の欠点は

多段階の保護・脱保護反応を繰り返さなければならない点にある。また、多段階の反応を用いると、多数の精製過程が必要となり、さらに無駄となる試料も多くなる。

発明の開示

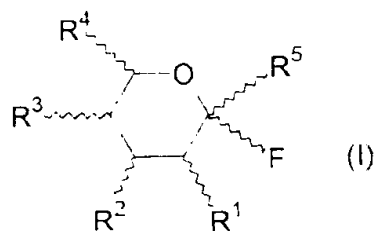
- 5 本発明の目的は、糖ペプチド類をきわめて簡単な操作で製造する方法を提供するものである。本発明の他の目的は、糖ペプチドモノマーを縮重合して規則性糖ペプチド類を製造する方法を提供するものである。

- 10 本発明者の研究によれば、水酸基をエーテル系保護基で保護した単糖またはオリゴ糖のフルオロ化グリコシドをアミノ酸またはペプチド誘導体とカップリングし、水素添加により糖ペプチドの保護基を一度に脱保護することにより所望の糖ペプチドが容易に得られること、さらに、得られた糖ペプチドをペプチド縮合剤の存在下に縮重合することにより簡単に規則性糖ペプチド類を調製することのできることを見出し、本発明を完成するに至った。

図面の簡単な説明

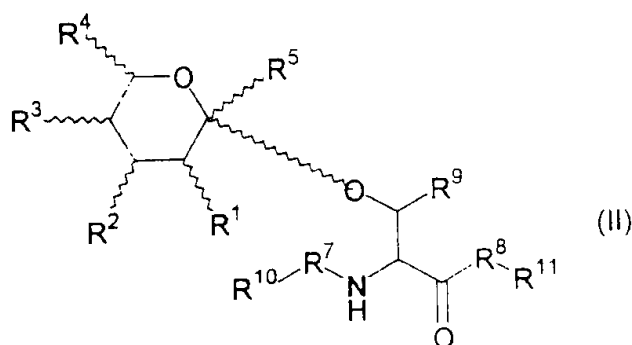
- 15 図1は天然AFGPと本発明のポリマーの凝固点降下活性のグラフである。
発明を実施するための最良の形態

本発明の方法によれば、一般式(I)・



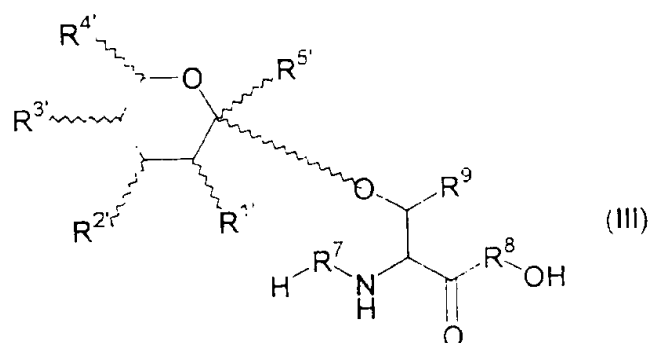
- 20 (式中、 R^1 は $-OR^6$ (R^6 は水素原子または水酸基保護基) またはアミノ基前駆体、 R^2 および R^3 は $-OR^7$ (R^7 は水素原子、水酸基保護基、または糖残基)、 R^4 は $-CH_2OR^8$ (R^8 は水素原子、水酸基保護基または糖残基) または $-CH_3$ 、 R^5 は水素原子を表す)

で示される単糖またはオリゴ糖のフッ素化グリコシドをアミノ酸またはペプチド類とカップリングさせ、得られる一般式(II):



(式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、および R^5 は前記と同義である。 R^7 および R^8 は単結合、1個のアミノ酸残基または複数個のアミノ酸からなるペプチド残基、 R^9 は水素原子または低級アルキル基、 R^{10} はアミノ基保護基、 R^{11} はカルボキシル基保護基を表す)

で示される化合物を、必要によりアミノ基前駆体を保護されたアミノ基に変換したのち、水素添加して脱保護することにより一般式(III):



(式中、 $R^{1'}$ は $-OH$ または保護されたアミノ基、 $R^{2'}$ および $R^{3'}$ は $-OR^{7'}$ ($R^{7'}$ は水酸基または糖残基)、 $R^{4'}$ は $-CH_2OR^{8'}$ ($R^{8'}$ は水素原子または糖残基)または $-CH_3$ 、 $R^{5'}$ は水素原子、 R^7 、 R^8 、 R^9 は上記と同義である)で示される糖ペプチド類が製造される。

上記の方法で出発物質として用いられる一般式(I)で示される単糖またはオリゴ糖のフッ素化グリコシドは、水酸基の保護基としてアシル系保護基を有していると、アミノ酸またはペプチドとカップリングさせて糖ペプチドに導く場合、その脱保護反応時に糖鎖の脱離反応やアミノ酸のラセミ化反応などを誘発する恐れ

がある。したがって、出発化合物(I)における水酸基の保護基としてはベンジル基、パラメトキシベンジル基、トリチル基等のエーテル系保護基で保護することが重要である。

一方、このような単糖またはオリゴ糖のアミノ化グリコシド(I)の製造は、単糖同士、単糖とオリゴ糖(2~10個の糖残基からなる糖鎖を有するもの)、あるいはオリゴ糖同士をグリコンデーション反応に付し、ついでアミノ化して行われるが、該グリコンデーション反応を立体選択的に行うために、糖残基の水酸基をアセチル基、ベンゾイル基等のアシル系の保護基を用いて保護することが多い。しかし、上述したように、そのようなアシル系保護基を持つ化合物を直接アミノ酸またはペプチドとのカップリングに供することは不都合であるため、かかるアシル系保護基をエーテル系保護基に変換しておくことが必要である。

そのような保護基の変換は、常法によって行われ、例えば、アシル系保護基で保護された単糖またはオリゴ糖をアルカリ、例えばナトリウムメトキシド等のアルカリ金属アルコキシドで処理してアシル系保護基を脱離させたのち、これに水素化ナトリウム、水素化カルシウム等の水素化アルカリ金属の存在下、ベンジルクロライド、ベンジルブコマイド、パラメトキシベンジルクロライド、パラメトキシベンジルプロマイド等の芳香族性クロライドを用いて水酸基をエーテル化することにより達せられる。

該出発化合物のアミノ化グリコシドは公知の方法にしたがって容易に製造される(D. Pegg and D. Anker, Carbohydrate Research, 166巻, 309頁, 1987)。たとえば、水酸基等の官能基を保護基で保護した単糖またはオリゴ糖は、アセトニトリル等の不活性有機溶媒中、トリメチルアミン、トリエチルアミン、トリエタノールアミン、ピリジン等の塩基の存在下、常温、好ましくは40~50°Cに加熱下、トリエチルアミン-3アミノ化ホ素系を反応させることにより容易にアミノ化物に導くことができ、その生成物を所望により上述したように、保護基の変換を行なったのち、アミノ酸またはペプチドとのカップリング反応に供することができる。

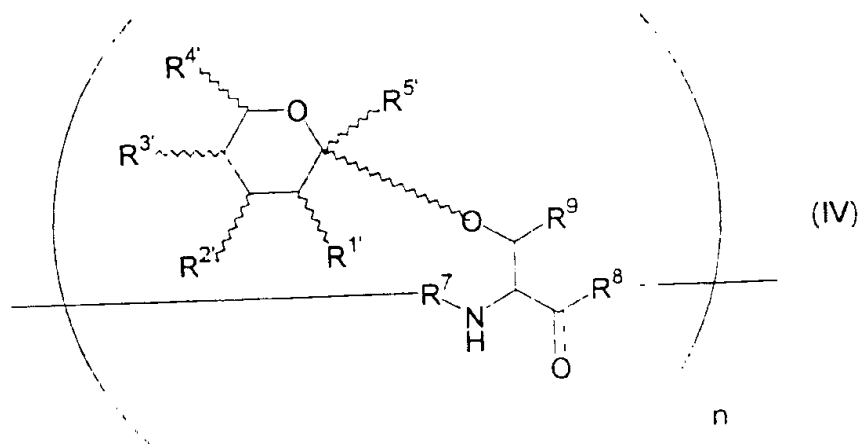
一般式(I)で示される単糖またはオリゴ糖のアミノ化グリコシドをアミノ酸またはペプチドとカップリングさせる方法は、鈴木らの手法(Tetrahedron Lett.,

30, 4853 (1989))を用いて行うことができる。すなわち、チッ素ガス雰囲気下、メタロセンクロライドおよび酸化銀の存在下に、塩化メチレン等の有機溶媒中で単糖またはオリゴ糖のアシ素化グリコシドおよびアミノ酸またはペプチドを攪拌しながら反応させる。

- 5 なお、一般式(I I)で示される化合物において、 R^{10} がアミノ基保護基としては、一般にペプチド合成において用いられるアミノ基保護基が含まれ得るか、好ましくは、ベンジルオキシカルボニル、 p -クロロベンジルオキシカルボニル、 p -メトキシベンジルオキシカルボニルなどのいわゆるZ基誘導体が挙げられる。また R^{11} のカルボキシ基保護基も一般にペプチド合成において用いられるカルボキシ基保護基が含まれ得るか、好ましくは、ベンジル、 p -クロロベンジル、 p -メトキシベンジルなどのベンジル誘導体が挙げられる。特に R^{11} をZ基誘導体、 R^{12} をベンジル誘導体とすることにより、後述するように、水素添加によりアミノ基とカルボキシ基の両保護基が一挙に脱保護できるため好ましい。

- 15 上記カブリング反応で得られる一般式(II)で示される化合物において、 R^{13} がアミノ基前駆体(例えばアシド基)である場合には、該アミノ基前駆体を常法にしたがって処理して保護されたアミノ基に変換する。例えば、 R^{13} がアシド基である式(II)の化合物は、ピリジン等の塩基の存在下、室温または加温下にチト酢酸で処理することにより R^{13} がアセチルアミノ基である化合物に変換される。この生成物を、ついで常法により水素添加することにより水酸基のエーテル系保護基を脱離させて一般式(III)で示される糖ペプチド類が得られる。例えば、該生成物をジメチルホルムアミド、メタノール、エタノール、水、酢酸水溶液等の適当な溶媒中、パラジウムカーボン等の接触還元剤の存在下に水素添加することにより目的の糖ペプチド(III)が得られる。

- 25 本発明によれば、さらに、上記で得られる一般式(III)で示される糖ペプチドを縮重合させることにより上記一般式(IV)で示される規則性糖ペプチドが得られる。



(式中、 $R^{1'}$ 、 $R^{2'}$ 、 $R^{3'}$ 、 $R^{4'}$ 、 $R^{5'}$ 、 R^6 、 R^7 、 R^8 および R^9 は前記と同義であり、 n は2～20の整数である)

5 この糖ペプチドの縮重合は、例えば、ジフェニルホスホリルアジド(DPPA)、ジエチルホスホリルシアニデート、アジド・リファ、メチルアミノホスホニウムヘキサフルオロリン酸塩等の有機リン化合物を用いる方法や、例えば、N-エトキシカルボニル-L-エトキシ-1,2-ジヒドロキノリン(EEDQ)、1-イソブチル-2-イソブチル-1,2-ジヒドロキノリン等のキノリン系ペプチド縮合剤を用いる方法がある。

10 上記糖ペプチドの縮重合は公知の条件で行うことができ、例えば有機リン化合物を用いる場合は、一般式(III)で示される糖ペプチド化合物をN,N-ジメチルホルムアミド、シメチルスルホキシド等の有機溶媒中、トリエチルアミン、トリメチルアミン等の塩基の存在下に上記有機リン化合物で処理することにより容易に目的とする規則性糖ペプチド類(IV)が得られる。

15 またキノリン系ペプチド縮合剤を用いる方法は、一般式(III)で示される糖ペプチドをメタノール、エタノール等の有機溶媒に溶解させ、これに前記キノリン系ペプチド縮合剤を加えて室温～加温下に反応させることにより達せられる。

20 なお、本明細書を通して単糖とは、D-グルコース、D-ガラクトース、D-マンノース、L-アラビコース等の天然の単糖類を、またオリゴ糖とはこれらの糖の2～10個が結合したものを意味する。また一般式(I)～(IV)における R^9

R^7 、 R^8 、 $R^{6'}$ 、 $R^{7'}$ および $R^{8'}$ で示される糖残基とは D-グルコース、D-ガラクトース、N-アセチルグルコサミン、N-アセチルガラクトサミン等の残基、すなわち α -D-グルコピラノシル、 β -D-グルコピラノシル、 α -D-ガラクトピラノシル、 β -D-ガラクトピラノシル、2-アセチルアミノ-2-デオキシ-1- β -D-グルコピラノシル、2-アセチルアミノ-2-デオキシ-1- β -D-ガラクトピラノシル等を意味し、それら糖残基のアミノ基および、またはカルオキシ基等の官能基がアセチル基、アタコイル基等の通常のアミノ保護基、メチル、エチル、ベンジル等のカルボキシ基保護基で保護されているのが好ましい。これらの保護基も他の保護基と同様に最終工程で常法により脱保護される。

実施例

つぎに参考例および実施例を挙げて本発明方法をさらに具体的に説明するが、本発明はこれらに限定されない。

参考例 1

O-(2,3,4,6-テトラ-O-ベンジルー β -D-ガラクトピラノシル)-(1 \rightarrow 3)-2-アミノ-4,6-O-ベンジリデン-2-デオキシ-1- β -D-ガラクトピラノシル フロリドの合成

(1) 2,3,6-トリ-O-アセチル- β -D-ガラクトースの合成

β -D-ガラクトースの完全アセチル体 (5.0 g, 12.8 mmol) をジクロロメタン (15.0 ml) に溶解し、無水酢酸 (1.0 ml) を加える。氷温まで冷やした後、3.0% HBr-酢酸 (8.2 ml, 3.20 mmol) を射光条件下で滴下する。反応系の温度を徐々に室温まで上げて、2.5 時間反応させる。反応終了後、氷水 (1.0 ml) を加えた後、ジクロロホルムで抽出する。有機層を水、炭酸水素ナトリウム水溶液および食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥させ、ろ過・濃縮することにより、1 位ブロモ体を得る。

酢酸 (8.0 ml) と水 (12.0 ml) の混合溶媒に酢酸ナトリウム (10.5 g, 12.8 mmol)、硫酸銅 ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; 8.0 g, 3.2 mmol) および亜鉛 (83.7 g, 1.28 mol) を溶かした溶液に、上記 1 位ブロモ体の酢酸 (8.0 ml) 溶液を氷温で滴下する。反応系の温度を徐々に室温まで上げて、1.2 時間反応させる。反応液をろ

過後、クロロホルムで抽出する。有機層を水、炭酸水素ナトリウム水溶液および食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥させ、ろ過、濃縮して2,3,6-トリ-*O*-アセチル- β -D-ガラクトール(34.8 g, 定量的)を得る。

(ii) 3,4,6-トリ-*O*-アセチル-2-アジト-2-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシルナイトレート

5

上記(i)で得られた2,3,6-トリ-*O*-アセチル- β -D-ガラクトール(12.5 g, 4.6 mmol)をアセトニトリル(150 ml)に溶解し、硝酸セリウム(IV)アンモニウム($\text{Ce(IV)(NO}_3)_3 \cdot (\text{NH}_4)_2$; 5.0 g, 9.2 mmol)を加え、反応系を-20°Cまで冷却した後、窒化ナトリウム(4.2 g, 6.4 mmol)を加える。反応系の温度を徐々に室温まで上げて、12時間反応させる。反応終了後、水を加え酢酸エチルで抽出する。有機層を食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥させ、ろ過、濃縮後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(トルエン:酢酸エチル=10:1)により分取して、3,4,6-トリ-*O*-アセチル-2-アジト-2-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシルナイトレート(11.6 g, 68%)を得る。

10

15

(iii) 3,4,6-トリ-*O*-アセチル-2-アジト-2-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシルフロリドの合成

20

上記(ii)で得られた3,4,6-トリ-*O*-アセチル-2-アジト-2-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシルナイトレート(6.2 g, 16.5 mmol)をアセトニトリル(30 ml)に溶解し、これにトリエチルアミン(1.5 ml)とトリエチルアミン-3-HF(6.6 ml, 41.2 mmol)を加え、反応系を窒素置換する。40~50°Cで18時間反応させた後、濃縮し、クロロホルムで抽出する。有機層を食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥させ、ろ過、濃縮後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(トルエン:酢酸エチル=4:1)により分取して3,4,6-トリ-*O*-アセチル-2-アジト-2-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシルフロリド(3.2 g, 53%)を得る。上記反応の副成物として得られる1位水酸基の遊離体(1.3 g, 3.92 mmol)をテトラヒドロフラン(15 ml)に溶解し、反応系を窒素置換する。-20°Cまで冷却した後、トリエチルアミンスルファトリフロリド(DAST; 0.62 ml, 4.7 mmol)を加え、室温で10分反応させる。反応

25

終了後、再び -20°C まで冷やしメタノール(3 ml)を加えた後、濃縮し、クロロホルムで抽出する。有機層を炭酸水素ナトリウム水溶液および食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥させ、ろ過、濃縮後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(トルエン：酢酸エチル=15：1)により分取して同生成物(1.0 g, 8.8%)を得る。この工程の出発ナイトレート化合物から目的のフロリド化合物の総収量は4.2 g(7.6%)である

(iv) 2-アジド-4,6-O-ベンジリデン-2-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシルフロリドの合成

上記(iii)で得られた3,4,6-トリ-O-アセチル-2-アジド-2-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシルフロリド(1.74 g, 5.22 mmol)を無水メタノール(20 ml)に溶解させる。これにナトリウムメチレート(27 mg, 0.52 mmol)を加え室温で反応させる。1時間後、陽イオン交換樹脂(DOWEX 50-8 X)を用いて反応系を $\text{pH}=7$ に調整する。陽イオン交換樹脂をろ過し濃縮する。濃縮されたシロップをジメチルホルムアミド(20 ml)に溶解し、ベンゾアルデヒドジメチルアセタール(1.57 ml, 10.4 mmol)と塩酸アルボニ酸(60.6 mg, 2.61 mmol)を加える。反応系から生成するメタノールをエバポレーターで除去し、つぎに 50°C で2時間反応させる。反応終了後、トリエチルアミン(1.8 ml, 13 mmol)を加えて反応をとめる。濃縮後シリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン：酢酸エチル=4：1 \sim 1：3 \rightarrow 0.5%トリエチルアミン)により分取して2-アジド-4,6-O-ベンジリデン-2-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシルフロリド(1.51 g, 9.8%)を得る

(v) 2-アジド-4,6-O-tert-ブチルシリル-2-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシルフロリドの合成

上記(iv)で得られた3,4,6-トリ-O-アセチル-2-アジド-2-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシルフロリド(1.92 mg, 5.79 mmol)を無水メタノール(15 ml)に溶解させる。これにナトリウムメチレート(31 mg, 0.58 mmol)を加え、室温で反応させる。1時間後、陽イオン交換樹脂(DOWEX 50-8 X)を用いて反応系を $\text{pH}=7$ に調整する。陽イオン交換樹脂をろ過し濃縮する。濃縮されたシロップをピリジン(20 ml)に溶解し、1-ヒドロキベンゾトリア

ギール(1.60mg, 0.07mmol)とジ-tert-ブチルジクロシラン(1.34ml, 0.4mmol)を加え、反応系を窒素置換する。80~90℃で1.3時間反応させた後、室温まで放冷し濃縮する。クロロホルムで抽出し、有機層を1N硫酸、炭酸水素ナトリウム水溶液および食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥させ、ろ過、濃縮後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(トルエン：酢酸エチル=15：1)により分取して、2-アジド-4,6-ジ-tert-ブチルシリレンシイル-2-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシルフロリド(1.52g, 76%)を得る。

(vi) 2,3,4,6-テトラ-O-アセチル-β-D-ガラクトピラノシルトリクロロアセトイミデートの合成

D-ガラクトースの完全アセチン体(20g, 51.2mmol)をテトラヒドロフラン(150ml)に溶解し、ベンジルアミン(9.5ml, 87.1mmol)を加え、1.2時間反応させる。反応終了後、濃縮し、クロロホルムで抽出し、有機層を1N硫酸、炭酸水素ナトリウム水溶液および食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥させ、ろ過、濃縮後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(トルエン：酢酸エチル=5：1)により分取し、濃縮する。得られた1位水酸基の遊離体をジクロルメタン(100ml)に溶解し、-10℃まで冷やした後、トリクロロアセトニトリル(24.7ml, 246mmol)と1,8-シアサビシクロ[5,4,0]ウンデカ-7-エン(3.83ml, 25.6mmol)を加える。室温で1時間反応させた後、15℃で濃縮する。この反応液をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(トルエン：酢酸エチル=5：1-0.5%トリエチルアミン)により分取して、2,3,4,6-テトラ-O-アセチル-β-D-ガラクトピラノシルトリクロロアセトイミデート(17.5g, 70%)を得る。

(vii) 2,3,4,6-テトラ-O-アセチル-β-D-ガラクトピラノシル(1-3)-2-アジド-4,6-O-ベンジリデン-2-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシルフロリドの合成

上記(vi)で得られた2,3,4,6-テトラ-O-アセチル-β-D-ガラクトピラノシルトリクロロアセトイミデート(2.36g, 4.8mmol)と上記(v)で得られた2-アジド-4,6-O-ベンジリデン-2-デオキシ-β-D-ガラクト

ピラノシルフロリド(1.18g, 4.0mmol)をジクロルメタン(15ml)に溶解し、モノキエーラーブス(1.0g)を加え、反応系を窒素置換する。-15℃まで冷やした後、トリメチルシリルジフロロホスホネート(77μl, 0.40mmol)のジクロルメタン(0.5ml)希釈液を加える。-15℃を保ったまま2時間反応させた後、トリエチルアミン(1ml)を加えて反応を止める。ろ過、濃縮後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(トルエン：酢酸エチル=5：1-0.5%トリエチルアミン)により分取して、O-(2,3,4,6-テトラ-O-アセチル-β-D-ガラクトピラノシル)-(1→3)-2-アジド-4,6-O-ベンジリデン-2-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシルフロリド(2.17g, 87%)を得る。

¹H-NMR δ (CDCl₃): 5.57 (s, 1H, Ph-CH), 5.07 (dd, 1H, J=52.5, 7.5Hz, H-1), 4.80

(d, 1H, J=7.9Hz, H-1')

(VII) O-(2,3,4,6-テトラ-O-ベンジル-β-D-ガラクトピラノシル)-(1→3)-2-アジド-4,6-O-ベンジリデン-2-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシルフロリド(8)の合成

上記(VI)で得られたO-(2,3,4,6-テトラ-O-アセチル-β-D-ガラクトピラノシル)-(1→3)-2-アジド-4,6-O-ベンジリデン-2-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシルフロリド(1.3g, 2.08mmol)を無水メタノール20mlに溶解させる。ナトリウムメチレート(10mg, 0.2mmol)を加え室温で反応させる。1時間後、陽イオン交換樹脂(DOWEX 50-8X)を用いて反応系をpH=7に調整する。陽イオン交換樹脂をろ過し濃縮する。

濃縮されたシロップをN,N-ジメチルホルムアミド20mlに溶解した後、-20℃まで冷却する。水酸化ナトリウム(60%) (552mg, 16mmol)を加え15分間攪拌し、ベンジルフロリド(4.9ml, 40mmol)を加える。反応系の温度を徐々に室温まで上げて、3時間反応させる。反応終了後、水10mlを加えた後クロロホルムで抽出する。有機層を5%メタノール溶液(飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥させる。ろ過、濃縮の後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(移動相、ヘキサン：酢酸エチル=5：1、トリエチルアミン0.5%)により分取して目的物(1.2g, 71%)を得る。

$^1\text{H-NMR } \delta$ (CDCl_3): 5.50 (s, 1H, Ph-CH), 5.15 (dd, 1H, $J=52.6, 7.5\text{Hz}$, H-1), 4.68 (d, 1H, $J=7.6\text{Hz}$, H-1'), 4.31~4.26 (m, 2H, H-4, H-6a), 4.01~3.84 (m, 4H, H-2, H-2', H-4', H-6b), 3.61~3.48 (m, 5H, H-3, H-3', H-5', H-6a, H-6b'), 3.39 (s, 1H, H-5)

参考例 2

- 5 O-(2, 3, 4, 6, -テトラ-O-ベンジル- β -D-ガラクトピラノシル)-(1 \rightarrow 3)-2-アジド-4, 6-ジ-O-ベンジル-2-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシルフロリドの合成

- 前記参考例 1-(VII)で得られた O-(2, 3, 4, 6-テトラ-O-ベンジル- β -D-ガラクトピラノシル)-(1 \rightarrow 3)-2-アジド-4, 6-O-ベンジリド
 10 ジ-2-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシルフロリド (474mg, 0.758 mmol) を無水メタノール (10ml) に溶解させ、その溶液を氷温まで冷やした後ナトリウムメチレート (8mg, 0.152 mmol) を加え、室温で反応させる。1 時間後、陽イオン交換樹脂 (DOWEX 50-8X) を用いて反応系を pH=7 に調整する。陽イオン交換樹脂をろ過し、濃縮する。その濃縮物を再びメタノール (15ml) に溶解し、樟脳スルホン酸 (55mg, 0.237 mmol) を加え、37℃で 2 時間反応させる。
 15 反応終了後、トリエチルアミン (0.31ml, 3.03 mmol) を加えた後、濃縮する。濃縮されたシロップをジメチルホルムアミド (15ml) に溶解した後、-20℃まで冷却する。水素化ナトリウム (60%) (364mg, 9.10 mmol) を加え、15 分間攪拌し、ベンジシプロミド (1.62ml, 13.6 mmol) を加える。反応系の温度を徐々に室温まで上げて、12 時間反応させる。反応終了後、氷を加えて攪拌した後、濃縮し、クロロホルムで抽出する。有機層を水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥させ、ろ過、濃縮後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサ:酢酸エチル=5:1) により分取して目的物 (486mg, 77%) を得る。

- 25 $^1\text{H-NMR } \delta$ (CDCl_3): 5.10 (dd, 1H, $J=52.5, 7.3\text{Hz}$, H-1) 4.65 (d, 1H, $J=7.8\text{Hz}$, H-1'), 3.95~3.83 (m, 4H, H-2, H-2', H-4, H-4'), 3.63~3.43 (m, 8H, H-3, H-3', H-5, H-5', H-6a, H-6b, H-6a', H-6b')

参考例 3

O-(2, 3, 4, 6, -テトラ-O-アセチル- β -D-ガラクトピラノシル)-(1 \rightarrow 3)-2-アジド-4, 6-ジ-tert-ブチルシロレンビール-2-デオキシ-

—β-D—ガラクトピラノシルフロリドの合成

前記参考例1—(v)で得られた2,3,4,6,—テトラ—O—アセチル—β—D—
 ガラクトピラノシルトリクロロアセトイミデート(403mg, 0.82mmol)と前
 記参考例1—(v)で得られた2—アジド—4,6—ジ—tert—ブチルシリレンジ
 5 イル—2—デオキシー—β—D—ガラクトピラノシルフロリド(237g, 0.68
 mmol)をジクロルメタン(3ml)に溶解し、その溶液にモノキエーラーブス(20
 0mg)を加え、反応系を窒素置換する。—20℃まで冷やした後、トリメチルシ
 リルトリアクロマタンスルホネート(13μl, 68μmol)のジクロルメタン
 (0.5ml)希釈液を加える。—20℃を保ったまま2時間反応させた後、トリエ
 10 チルアミン(1ml)加えて反応を止める。ろ過、濃縮後、シリカゲルカラムクロマ
 トグラフィー(トルエン：酢酸エチル=10：1→0.5%トリエチルアミン)によ
 り分取して目的物(397mg, 86%)を得る。

¹H-NMR δ (CDCl₃): 5.04 (dd, 1H, J=5.6, 7.6Hz, H-1), 4.76 (d, 1H, J=7.8Hz, H-1'),
 1.04 (d, 18H, t-Bu·2)

参考例4

4—ヒドロキシカルボニル—L—アラニン—L—スレオニン—L—アラニン—
 ベンジルエステル合成

H—L—アラニン(8.48g, 84.8mmol)、ベンジルエステル・トルエンスルホン酸塩(2.71g, 8.48
 mmol)をクロロホルム(20ml)に溶解し、氷温まで冷却する。これにトリエチル
 20 アミン(1.2ml, 8.48mmol)を加え、塩を中和した後、濃縮してH—L—アラ
 ニンベンジルエステルを得る。次にtert—ブトキシカルボニル—スレオニン(1.6
 9g, 7.71mmol)をベンゼン(10ml)に溶解し、EEDQ(N—エトキシカルボ
 ニル—2—エトキ—1,2—ジヒドロキノリン)(2.10g, 8.48mmol)を加え、
 室温で10分間攪拌する。この混合液に、上記H—L—アラニンベンジルエステ
 25 ルカベンゼン(10ml)溶液を加える。室温で12時間反応させた後、濃縮し、酢
 酸エチルで抽出し、有機層を5%クエン酸、炭酸水素ナトリウム水溶液、および
 食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥させ、ろ過、濃縮してtert—ブトキ
 シカルボニル—L—スレオニン(OH)—L—アラニンベンジルエステル(2.51
 g, 86%)を得る。この生成物(3.3g, 8.67mmol)を4N—HCl—tert—オキサ

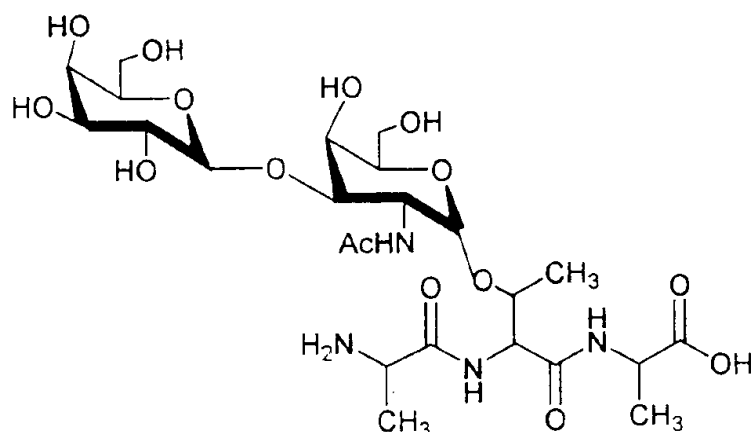
ン(50 ml, 0.2 mol)に溶解し、室温で1時間反応させ、濃縮する。次にエタノール(30 ml)に溶解し、トリエチルアミン(1.3 ml, 9.53 mmol)を加え、塩を中和した後、濃縮してH-レスレオニン(OH)-L-アラニンベンジルエステルを得る。

- 5 別途、ベンジルオキシカルボニル-L-アラニン(2.03 g, 9.1 mmol)をエタノール-ジメチルホルムアミド(1:1)の混合溶媒(30 ml)に溶解し、EEDQ(2.47 g, 9.9 mmol)を加え、室温で10分間攪拌する。これに、上記H-レスレオニン(OH)-L-アラニンベンジルエステルのエタノール(15 ml)溶液を加える。室温で12時間反応させた後、濃縮し、その濃縮液を少量のエタノール
- 10 に溶かし、エーテルとn-ヘキサンを加えて結晶化させる。結晶をろ取し、1N塩酸、炭酸水素ナトリウム水溶液および食塩水で洗浄して目的物(3.6 g, 85%)を得る。

- ¹H-NMR δ (DMSO): 1.02 (d, 3H, J=6.3Hz, Thr-γ-H), 1.20 (d, 3H, J=7.0Hz, Ala-β-H), 1.28 (d, 3H, J=7.3Hz, Ala-β'-H), 3.31 (dd, 1H, J=10.4, 5.0Hz, Thr-β-H), 3.31 (ddd, 1H, J=7.2, 7.0, 7.0Hz, Ala-α-H), 4.17 (dd, 1H, J=8.2, 4.0Hz, Thr-α-H), 4.30 (ddd, 1H, J=7.2, 7.1, 7.0Hz, Ala-α'-H), 7.31 (m, 10H, Ar)
- 15

実施例1

- L-アラニン-(β-D-ガラクトピラノシル)-(1→3)-2-(アセトアミド-2-デオキシ-1-α-D-ガラクトピラノシル)-レスレオニン-L-アラニンの合成
- 20



(i) 参考例 4 で得られたベンジルオキシカルボニル-L-アラニン-L-スレオニル-L-アラニン-ベンジルエステル (1.165 g, 2.4 mmol) を、塩化メチレン 10 ml、モンキュラーシープス 1.5 g、ジルコノセンジクオリド (Cp 2 Zr Cl₂) (468 mg, 1.6 mmol)、過塩素酸銀 (663 mg, 3.2 mmol) と共に混ぜ、反応系を水素ガスで置換した後 -20℃ に冷却し、30 分間攪拌する。この反応液に、上記参考例 1 で得られた (O-(2, 3, 4, 6-テトラ-O-ベンジル-β-D-ガラクトピラノシル)-(1→3)-2-アジド-4, 6-O-ベンジリデン-α-D-デオキシ-1-α-D-ガラクトピラノシル) フロリド (654 mg, 0.8 mmol) の塩化メチレン (5 ml) 溶液を加える。6 時間攪拌した後、反応液をろ過し、ろ液を濃縮する。得られたシロップをクロコホルム 50 ml に溶解した後、飽和食塩水で有機層を洗い、無水硫酸マグネシウムで乾燥させる。ろ過、濃縮後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (移動相、ヘキサン/酢酸エチル=3:1) により分収することでベンジルオキシカルボニル-L-アラニン-(O-(2, 3, 4, 6-テトラ-O-ベンジル-β-D-ガラクトピラノシル)-(1→3)-(2-アジド-4, 6-O-ベンジリデン-2-デオキシ-1-α-D-ガラクトピラノシル))-L-スレオニル-L-アラニン-ベンジルエステル (463 mg, 45%) を得る。¹H-NMR δ (CDCl₃): 5.48 (s, 1H, Ph-CH), 5.35 (d, 1H, J=3.5 Hz, H-1), 4.67 (d, 1H, J=7.6 Hz, H-1'

(ii) ベンジルオキシカルボニル-L-アラニン-(O-(2, 3, 4, 6-テトラ-O-ベンジル-β-D-ガラクトピラノシル)-(1→3)-(2-アジド-4,

6- α -ベンジリデン-2-デオキシ-1- α -D-ガラクトピラノシル)-L-スレオニン-L-アラニン-ベンジルエステル(41.9mg, 0.326mmol)

を酢酸4mlとピリジン2ml中室温で20時間攪拌した後、反応系を濃縮する。

5 得られたシロップをシリカゲルカラムクロマトグラフィ(移動相、トルエン:酢酸エチル=1:1-0.5トリエチルアミン)により分取してベンジルオキソカルボニル-L-アラニン-(O-(2,3,4,6-テトラ-O-ベンジル- β -D-ガラクトピラノシル)-(1 \rightarrow 3)-(2-アセトアミド-4,6-O-ベンジリデン-2-デオキシ-1- α -D-ガラクトピラノシル)-L-スレオニン-L-アラニン-ベンジルエステル(26.6mg, 6.3%)を得る。

10 $^1\text{H-NMR}$ δ (CDCl_3): 5.41 (s, 1H, Ph-CH), 5.21 (d, 1H, $J=3.5\text{Hz}$, H-1), 4.60 (d, 1H, $J=8.7\text{Hz}$, H-1'), 1.97 (s, 3H, CH_3NH)

15 (iii) ベンジルオキソカルボニル-L-アラニン-(O-(2,3,4,6-テトラ-O-ベンジル- β -D-ガラクトピラノシル)-(1 \rightarrow 3)-(2-アセトアミド-4,6-O-ベンジリデン-2-デオキシ-1- α -D-ガラクトピラノシル)-L-スレオニン-L-アラニン-ベンジルエステル(15mg, 12 μmol)を、N,N-ジメチルホルムアミド3ml、酢酸1ml、水1mlに溶かし、パラジウムカーボン(100mg)を加え、反応系を水素で置換する。3時間室温で反応させた後、パラジウムカーボンを取り除き、G-10を用いてゲルろ過した後、凍結乾燥することにより目的物(7.2mg、定量的)を得る。

20 $^1\text{H-NMR}$ δ (D_2O): 4.88 (d, 1H, $J=3.7\text{Hz}$, H-1), 4.43 (d, 1H, $J=2.1\text{Hz}$, Thr- α -H), 4.33 (dd, $J=6.6, 2.1\text{Hz}$, Thr- β -H), 4.36 (d, 1H, $J=7.8\text{Hz}$, H-1'), 4.20 (dd, 1H, $J=11.1, 3.7\text{Hz}$, H-2'), 4.16 (m, 1H, Ala- α -H), 4.11 (d, 1H, $J=1.7\text{Hz}$, H-4), 4.05 (dd, 1H, $J=14.2, 7.1\text{Hz}$, Ala- α -H), 3.97 (m, 1H, H-5), 3.94 (m, 1H, H-3), 3.80 (d, 1H, $J=3.2\text{Hz}$, H-1'), 3.66 (m, 4H, H-6a, 6H, 6a', 6b'), 3.97 (m, 1H, H-5'), 3.53 (m, 1H, H-3'), 3.42 (dd, 1H, $J=9.8, 7.8\text{Hz}$, H-2'), 1.91 (s, 3H, CH_3NH), 1.50 (d, 3H, $J=7.0\text{Hz}$, Ala- β -H), 1.22 (d, 3H, $J=7.2\text{Hz}$, Ala- β -H), 1.29 (d, 3H, $J=6.6\text{Hz}$, Thr- γ -H)

25 $^{13}\text{C-NMR}$ δ (D_2O): 105.5 (C-1'), 99.0 (C-1).

実施例2

L-アラニン-(β -D-ガラクトピラノシル)-(1 \rightarrow 3)-(2-アセトアミ

ド-2-デオキシ-1- α -D-ガラクトピラノシル)-L-スレオニン-L-アラニンの合成

- (i) ジルコニセンジクロリド(Cp_2ZrCl_2) (543 mg, 1.86 mmol)、過塩素酸銀 (771 mg, 3.72 mmol) をジクロルメタン (10 ml) に溶かし、モノキエ
 5 ラーシープス 1.0 g 加えた後、反応系を窒素置換して 10 分間室温で攪拌する。
 これに、参考例 4 で得られたベンジルオキシカルボニル-L-アラニン-L-ス
 レオニン-L-アラニンベンシルエステル (904 mg, 1.86 mmol) を加え、反応
 系を -40°C まで冷却する。この反応液に、 CH_2Cl_2 (3 ml) に溶かした参考
 10 例 2 で得られた $\text{O}-(2,3,4,6\text{-テトラ-O-ベンジル-}\beta\text{-D-ガラクトピラノシル})-(1\rightarrow3)-(2\text{-アジド-}4,6\text{-ジ-O-ベンジル-2-デオキシ-}\alpha\text{-D-ガラクトピラノシル})$ プロリド (620 mg, 0.74 mmol) のジクロルメタン
 (3 ml) 溶液を加え、ゆっくり室温まで温度を上げ、18 時間反応させる。ピリジ
 ン (1 ml) を加え反応を終結させ、クロロホルムで抽出する。有機層を炭酸水素ナ
 トリウム水溶液および食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥させ、
 15 ろ過、濃縮後、シリカゲルカラムクロマトグラフィ (トルエン：酢酸エチル =
 9：1 \rightarrow 0.5% トリエチルアミン) により分取してベンジルオキシカルボニル-L-
 アラニン-($\text{O}-(2,3,4,6\text{-テトラ-O-ベンジル-}\beta\text{-D-ガラクトピラノシル})-(1\rightarrow3)-(2\text{-アジド-}4,6\text{-ジ-O-ベンジル-2-デオキシ-}\alpha\text{-D-ガラクトピラノシル})$ -L-スレオニン-L-アラニンベンシルエ
 20 ステル (333 mg, 33%) を得る。

$^1\text{H-NMR } \delta$ (CDCl_3): 5.17 (d, 1H, $J=3.7\text{Hz}$, H-1), 4.64 (d, 1H, $J=8.15\text{Hz}$, H-1')

- (ii) 上記ベンジルオキシカルボニル-L-アラニン-($\text{O}-(2,3,4,6\text{-テトラ-O-ベンジル-}\beta\text{-D-ガラクトピラノシル})-(1\rightarrow3)-(2\text{-アジド-}4,6\text{-ジ-O-ベンジル-2-デオキシ-}\alpha\text{-D-ガラクトピラノシル})$ -L-スレオニン-L-アラニンベンシルエステル (283 mg, 0.206 mmol) をチオ
 25 酢酸 (2 ml) に溶解させる。ピリジン (1 ml) を加え室温で 20 時間反応させた後、
 減圧濃縮する。その濃縮液をシリカゲルカラムクロマトグラフィ (ヘキサン：酢
 酸エチル = 2：3) に付してベンジルオキシカルボニル-L-アラニン-($\text{O}-(2,3,4,6\text{-テトラ-O-ベンジル-}\beta\text{-D-ガラクトピラノシル})-(1\rightarrow$

3)-(2-アセトアミド-4,6-ジ- α -ベンジル-2-デオキシ- α -D-ガラクトピラノシル)-L-スレオニン-L-アラニン-ベンジルエステル(238 mg, 83%)を得る。

$^1\text{H-NMR}$ δ (CDCl_3): 5.20 (d, 1H, $J=3.5\text{Hz}$, H-1), 4.66 (d, 1H, $J=7.8\text{Hz}$, H-1'), 1.65

5 (s, 3H, CH_3NH)

(iii) 上記生成物を実施例1-(ii)と同様に脱保護処理して目的のL-アラニン-(β -D-ガラクトピラノシル)-(1 \rightarrow 3)-(2-アセトアミド-2-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシル)-L-スレオニン-L-アラニンを得る。
この生成物はNMRにより実施例1の生成物と同一であると確認される。

10 実施例3

2-アセトアミド-2-デオキシ-1- α -D-ガラクトピラノシル-L-セリン-ポリマーの合成

2-アセトアミド-2-デオキシ-1- α -D-ガラクトピラノシル-L-セリン3.6 mg (0.012 mmol)をN,N-ジメチルホルムアミドに溶解させる。乾燥
15 剤として、ドライライト100 mgを加え、反応系を窒素置換する。30分後にジフェニルホスホリルアジド21 μ l (0.056 mmol)とトリエチルアミン37 μ l (0.28 mmol)を加える。室温で3日間反応させ減圧濃縮し、G-25を用いて分取し、凍結乾燥することにより標記化合物2.5 mgを得る。

実施例4

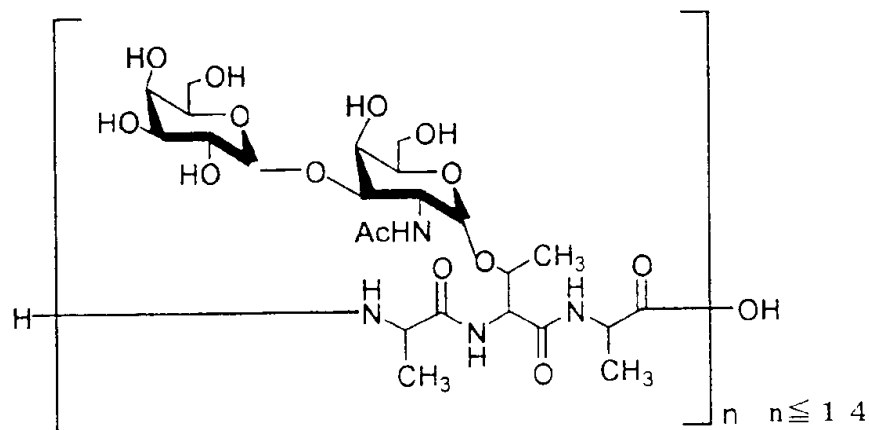
20 2-アセトアミド-2-デオキシ-1- α -D-ガラクトピラノシル-L-セリン-ポリマーの合成

2-アセトアミド-2-デオキシ-1- α -D-ガラクトピラノシル-L-セリン11.6 mg (0.0376 mmol)をメタノールに溶解させる。N-エトキシカルボニル-2-ニコチン-1,2-ジヒドロキノリン100 mg (0.414 mmol)を加え、室
25 温で1日反応させる。減圧濃縮後、LH-20を用いて分取し、凍結乾燥することにより標記化合物7.0 mgを得る

実施例5

L-アラニン-(β -D-ガラクトピラノシル)-(1 \rightarrow 3)-(2-アセトアミド-2-デオキシ-1- α -D-ガラクトピラノシル)-L-スレオニン-L-

アラニンのポリマーの合成



実施例 1 の方法によって調整された L-アラニン(β-D-ガラクトピラノシル
 (1→3)-(2-アセトアミド-2-デオキシ-1-α-D-ガラクトピラ
 ノシル)-L-スレオニン-L-アラニン(2.1 mg, 33.5 μmol)をシメチルホル
 ムアミド 400 μl に溶解し、氷温まで冷やす。DPPA(ジフェニルホスホリル
 アジド)(9.4 μl, 43.6 μmol)とトリエチルアミン(6.0 μl, 43.6 μmol)
 を加える。反応系の温度を徐々に室温まで上げ、3日間反応させる。反応後、エ
 ーテルとニタノールを用いて沈殿物を得る。その沈殿物を 1 M アンモニア水に溶
 解し、1日攪拌する。再び、エーテルとエタノールを用いて沈殿させ、沈殿物を
 真空ろ過によって精製し、目的とする標記ポリマー(1.8 mg, 86%)を得る。

¹H-NMR δ (D₂O): 4.88 (d, 1H, J=3.7 Hz, H-1), 4.37~4.12 (m, 7H, Thr-α-H, Thr-β-H,
 H-1'), Ala-α-H(2, H-2, H-4), 3.97~3.94 (m, 2H, H-5, H-3), 3.80 (d, 1H, J=2.9 Hz, H-
 4'), 3.66 (m, 4H, H-6a, 6b, 6a', 6b'), 3.97~3.53 (m, 2H, H-5', H-3'), 3.42 (dd, 1H, J=
 9.8, 7.8 Hz, H-2'), 1.92 (s, 3H, CH₃NH), 1.33 (m, 9H, -CH₃ × 3)

¹³C-NMR δ (D₂O): 105.5 (C-1'), 99.8 (C-1)

実施例 6

L-アラニン-(β-D-ガラクトピラノシル)-(1→3)-(2-アセトアミ
 ド-2-デオキシ-1-α-D-ガラクトピラノシル)-L-スレオニン-L-
 アラニンのポリマーの合成

実施例 1 の方法によって調製された L-アラニン-(β-D-ガラクトピラノ

シルー(1→3)ー(2ーアセトアミドー2ーデオキシー1ー α ーDーガラクトピ
ラノシル)ーLースレオニンーLーアラニン(10mg, 16.0 μ mol)をメタノール
(150 μ l)およびジメチルホルムアミド(50 μ l)の混合溶媒に溶解し、E E
DQ(4.7mg, 19.1 μ mol)を加え、室温で24時間反応させる。反応後、エー
テルとエタノールを用いて沈殿物を得る。その沈殿物をゲルろ過によって精製し、
5 目的とする標記ポリマー(8mg, 80%)を得る。

実験例1

前記実施例5で得られるポリマー(糖ペプチド)は、アンチフリーズグリコプロ
テイン(AFGP)と呼ばれる天然の糖ペプチドの配列を有しており、その凝固点
10 降下作用を計り、天然のAFGPとの類似性を調べた。

実験方法：

本発明の実施例5のポリマーについて各種濃度の水溶液を調製してその凝固点
を調べた。凝固点降下は温度コントローラー付き光学顕微鏡にて測定した。まず、
過冷却による測定凝固点の誤差を取り除くために、あらかじめ系全体を -20°C
15 で凝結させ、氷粒を溶かしきらないように注意しつつ、系をふたたび 0°C に戻す。
ここでさらに徐々に降温してゆき、氷晶の成長を観察した。氷晶の成長が止まり、
系全体が凝結する温度を凝固点とした。その結果を第1図に示す。第1図には、
文献に記載に基づいた天然由来のAFGPの凝固点降下(Arthur I. DeVries,
Stanley K. Komatsu & Robert F. Boenig, Journal of Biological Chemistry,
20 245巻, 2901~2908頁, 1970年を参照)も合せ示す。

塩化ナトリウムなどによる物理化学的な濃度依存性の凝固点降下の場合、濃度
と凝固点降下の度合は直線関係になるが、AFGPの場合は曲線になる。本発
明のポリマーは、第1図に示されるように、天然由来のAFGPとほぼ同じ凝固
点降下活性を示す。また本発明のポリマーは氷晶の成長阻害を示した。

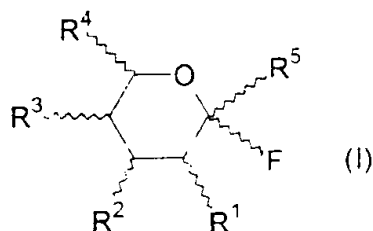
25 これらの結果から、本発明の糖ペプチドは、移植臓器などのための凍結剤と
して利用することが期待され、さらに保存剤として化粧品への応用も期待できる。
産業上の利用の可能性

本発明によれば、水酸基をエーテル系保護基で保護した単糖またはオリゴ糖の
ブロッカ化グリコシドを用いてアミノ酸またはペプチドとカップリングさせること

により容易に立体選択的な糖ペプチドモノマーが得られ、さらにこれを縮重合することにより、科学研究用材料および医療用、例えば、抗ウイルス剤、抗アレルギー剤、抗腫瘍剤などとして、また移植臓器用不凍化剤、化粧品用保湿剤、さらに食品材料として有用な規則性糖ペプチドを効率よく製造することができる。

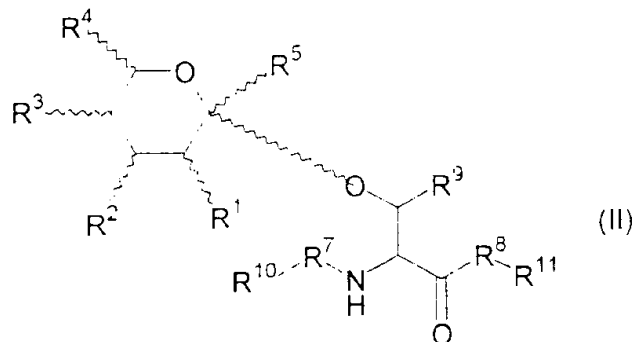
請求の範囲

1. 一般式(I):



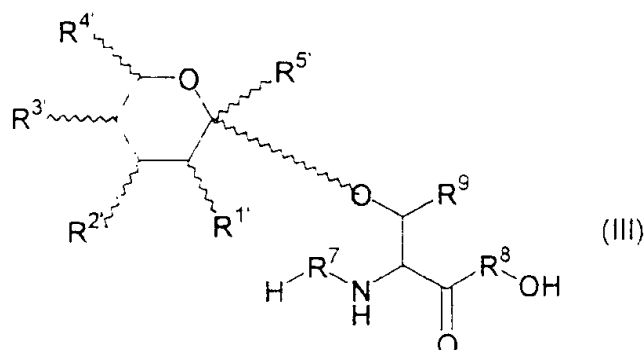
- 5 (式中、 R^1 は $-OR^6$ (R^6 は水素原子または水酸基保護基) またはアミノ基前駆体、 R^2 および R^3 は $-OR^7$ (R^7 は水素原子、水酸基保護基、または糖残基)、 R^4 は $-CH_2OR^8$ (R^8 は水素原子、水酸基保護基または糖残基) または $-CH_3$ 、 R^5 は水素原子を表す)

で示される単糖またはオリゴ糖のフッ素化グリコシドをアミノ酸またはペプチド類とカップリングさせて得られる一般式(II):



- 10 (式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、および R^5 は前記と同義である。 R^7 および R^8 は単結合、1個のアミノ酸残基または複数個のアミノ酸からなるペプチド残基、 R^9 は水素原子または低級アルキル基、 R^{10} はアミノ基保護基、 R^{11} はカルボキシル基保護基を表す)

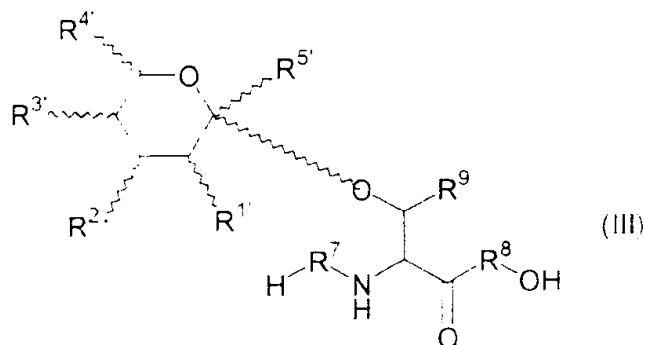
- 15 で示される化合物を、必要によりアミノ基前駆体を保護されたアミノ基に変えたのち、水素添加して脱保護することの特徴とする一般式(III):



(式中、 $R^{1'}$ は $-OH$ または保護されたアミノ基、 $R^{2'}$ および $R^{3'}$ は $-OR^{7'}$ ($R^{7'}$ は水酸基または糖残基)、 $R^{4'}$ は $-CH_2OR^{8'}$ ($R^{8'}$ は水素原子または糖残基) または $-CH_3$ 、 $R^{5'}$ は水素原子、 R^7 、 R^8 、 R^9 は上記と同義である)

5 で示される糖ペプチド類の製造法。

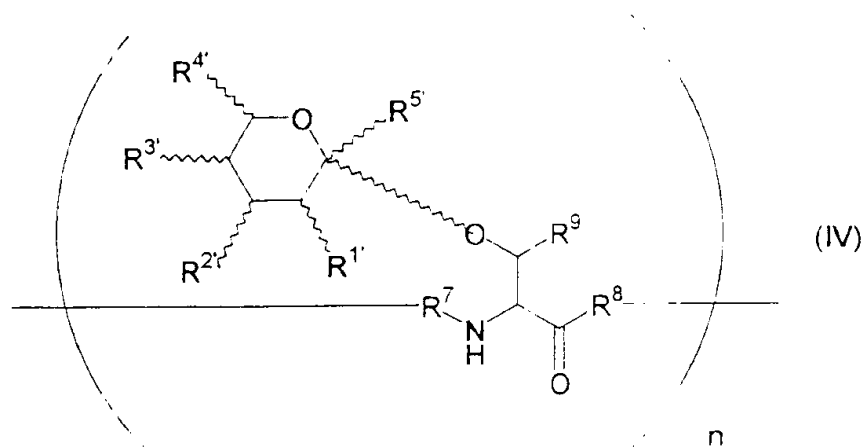
2. 一般式(III):



(式中、 $R^{1'}$ は $-OH$ または保護されたアミノ基、 $R^{2'}$ および $R^{3'}$ は $-OR^{7'}$ ($R^{7'}$ は水酸基または糖残基)、 $R^{4'}$ は $-CH_2OR^{8'}$ ($R^{8'}$ は水素原子または糖残基) または $-CH_3$ 、 $R^{5'}$ は水素原子、 R^7 および R^8 は単結合、1 個のアミノ酸からなるペプチド残基、 R^9 は水素原子または低級アルキル基を表す)

10

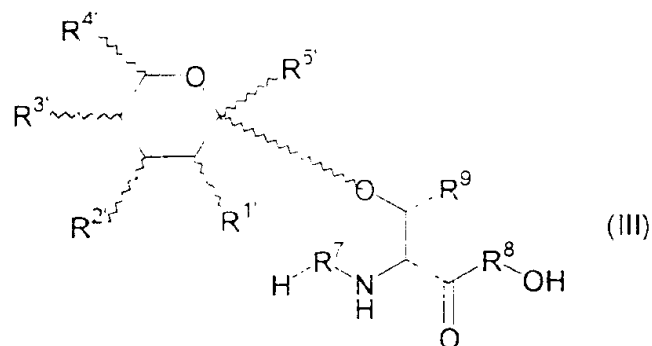
で示される糖質部分の水酸基が全てフリーである化合物を有機リン化合物の存在下に糖ペプチドの縮重合を行うことを特徴とする、一般式(IV):



(式中、 $R^{1'}$ 、 $R^{2'}$ 、 $R^{3'}$ 、 $R^{4'}$ 、 $R^{5'}$ 、 $R^{7'}$ 、 $R^{8'}$ および $R^{9'}$ は前記と同義であり、 n は2～20の整数である)

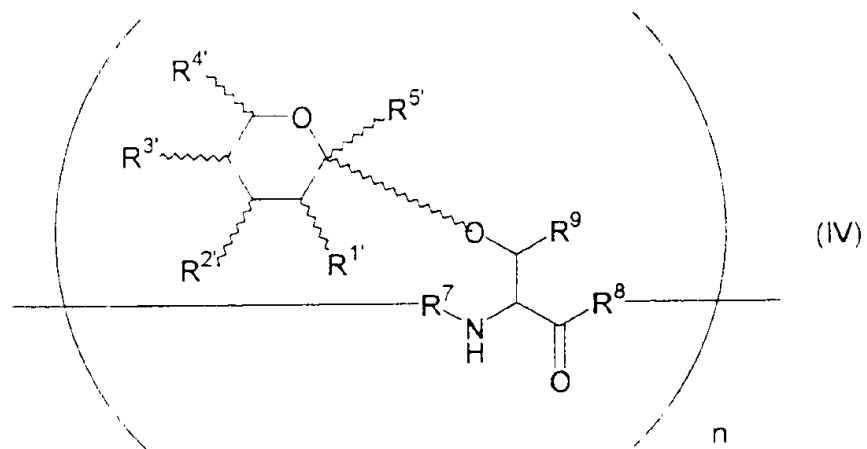
で示される規則性糖ペプチド類の製造方法。

3. 一般式(III):



(式中、 $R^{1'}$ は $-OH$ または保護されたアミノ基、 $R^{2'}$ および $R^{3'}$ は $-OR^{2''}$ ($R^{2''}$ は水酸基または糖残基)、 $R^{4'}$ は $-CH_2OP^{8'}$ ($R^{8'}$ は水素原子または糖残基)または $-CH_3$ 、 $R^{5'}$ は水素原子、 $R^{7'}$ および $R^{8'}$ は単結合、1個のアミノ酸残基または複数個のアミノ酸からなるペプチド残基、 $R^{9'}$ は水素原子または低級アルキル基を表す)

で示される糖質部分の水酸基が全てフリーである化合物をキノリン系ペプチド縮合剤の存在下に糖ペプチドの縮重合を行うことを特徴とする一般式(IV):

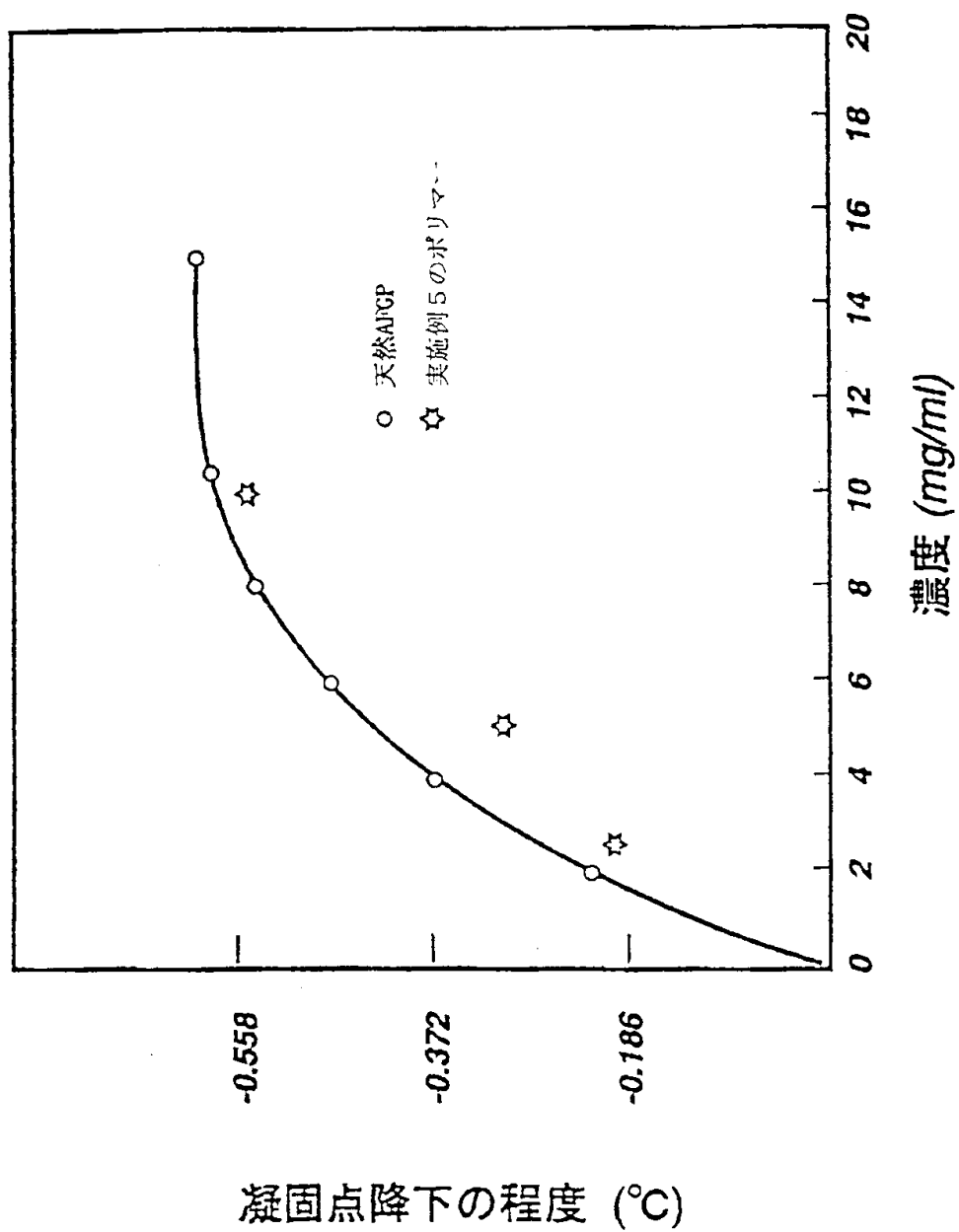


(式中、 $R^{1'}$ 、 $R^{2'}$ 、 $R^{3'}$ 、 $R^{4'}$ 、 $R^{5'}$ 、 R^7 、 R^8 および R^9 は上記と同義であり、 n は2～20の整数である)

で示される規則性糖ペプチドの製造法。

1/1

第1図



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/04262

| A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER Int.Cl. ⁶ C07K9/00 | | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC | | |
| B. FIELDS SEARCHED | | |
| Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) Int.Cl. ⁶ C07K9/00 | | |
| Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched | | |
| Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CA (STN), REGISTRY (STN) | | |
| C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
| X | WO, 97/15585, A1 (Kanebo, Ltd.), 1 May, 1997 (01. 05. 97), Scheme 1a & EP, 859005, A1 & US, 5919769, A & JP, 10-109998, A | 1-3 |
| A | Gerd B., et al., "O-glycoside synthesis under neutral conditions in concentrated solutions of LiClO ₄ in organic solvents employing benzyl-protected glycosyl donors", Liebig's Ann. (1996), Vol. 4, p.613-619 | 1-3 |
| A | Horst K., et al., "Stereoselective glycosylation of alcohols and silyl ethers using glycosyl fluorides and boron trifluoride etherate", Helvetica Chimica Acta (1985), Vol. 68, No. 1, p.283-287 | 1-3 |
| <input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex. | | |
| * Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family | | |
| Date of the actual completion of the international search 3 September, 1999 (03. 09. 99) | | Date of mailing of the international search report 14 September, 1999 (14. 09. 99) |
| Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office | | Authorized officer |
| Facsimile No. | | Telephone No. |

国際調査報告

国際出願番号 PCT/J P 99/04262

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁶ C 07 K 9/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁶ C 07 K 9/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で利用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN), REGISTRY (STN)

C. 関連すると認められる文献

| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
|-----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| X | WO, 97/15585, A1 (鐘紡株式会社) 1. 5月, 1997 (01. 05. 97) スキーム 1 a & EP, 859005, A1 & US, 5919769, A & JP, 10-109998, A | 1-3 |
| A | Gerd B., et al. "O-glycoside synthesis under neutral conditions in concentrated solutions of LiClO ₄ in organic solvents employing benzyl-protected glycosyl donors", Liebig's Ann. (1996), Vol. 4, p. 613-619 | 1-3 |

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

03. 09. 99

国際調査報告の発送日

14.09.99

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

富永 みどり

4 N 9152

電話番号 03-3581-1101 内線 3488

| C (続き) 関連すると認められる文献 | | |
|---------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
| A | Horst K, et al. "Stereoselective glycosylation of alcohols and silyl ethers using glycosyl fluorides and boron trifluoride etherate", Helvetica Chimica Acta (1985), Vol. 68, No. 1, p. 283-287 | 1-3 |